2020.08.25

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**Aula T/P1: MORFOLOGIA BACTERIANA**

Profa. Elisabete Vicente (bevicent@usp.br)

**(Dia 2 / 2)**



**RELATÓRIO: Morfologia microscópica bacteriana - COLORACAO DE GRAM**

**OBJETIVO:** O objetivo desta prática é a observação da morfologia de células bacterianas ao M.O.. Nesta abordagem, os esfregaços foram submetidos à coloração de Gram.

**E) QUESTÕES PARA ESTUDO - RESPOSTAS**

**1.** Complete a **Fig. 6** A e B abaixo, desenhando as morfologias de cada bactéria.

R: Estão abaixo:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 5. Gram negative bacilli (FMS3/Microbiology) Flashcards | Memorang | The Gram Stain | Bacillus subtilis, Bacillus, Microbiology | Staphylococcus aureus, gram positive cocci Medical Laboratory Scientist, Animal Medicine, Lab Rats, Tools For Teaching, Hematology, Electron Microscope, Hennas, Teaching Biology, Paper Toys | Staphylococcus aureus, gram positive cocci Medical Laboratory Scientist, Animal Medicine, Lab Rats, Tools For Teaching, Hematology, Electron Microscope, Hennas, Teaching Biology, Paper Toys |
| *Escherichia coli* | *Bacillus* sp | *Staphylococcus aureus* | *Streptococcus pyogenes* |

**Fig 6A**: Morfologias e colorações observações feitas ao M.O. (aumento de 1.000X) de células bacterianas que foram submetidas a Coloração de Gram.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 5. Gram negative bacilli (FMS3/Microbiology) Flashcards | Memorang***E. coli*** | The Gram Stain | Bacillus subtilis, Bacillus, Microbiology***Bacillus* sp** | Staphylococcus aureus, gram positive cocci Medical Laboratory Scientist, Animal Medicine, Lab Rats, Tools For Teaching, Hematology, Electron Microscope, Hennas, Teaching Biology, Paper Toys***Staphylococcus* sp** | Staphylococcus aureus, gram positive cocci Medical Laboratory Scientist, Animal Medicine, Lab Rats, Tools For Teaching, Hematology, Electron Microscope, Hennas, Teaching Biology, Paper Toys***Streptococcus* sp** |
| bacilo | bacilo | Coco | Coco |
| negativo | positivo | Positivo | Positivo |

**Fig. 6B** Visualizações ao Microscópio óptico (M.O.) de lâminas com bactérias coradas pela “Coloração de Gram” e os resultados obtidos correspondentes de suas MORFOLOGIAS.

**2.** Descreva a estrutura e composição das paredes de bactérias Gram-positivas e da parede celular de bactérias Gram-negativas

R: A parede celular de bactérias Gram-positivas é composta por uma espessa camada de peptideoglicano que também e chamado de mureina.

A parede celular de bactérias de bactérias Gram-negativas é composta por uma fina camada de peptideoglicano e mais exteriormente por uma membrana externa. A região que fica entre a membrana citoplasmática e a membrana externa é chamada de “espaço periplasmático”.

3. Desenhe a parede de cada tipo de uma bactéria Gram-positiva e de uma bactéria Gram-negativa.

R: Desenhe copiando a Fig. 4 do primeiro dia desta Prática ou consultando slides da Aula Teórica (AulaT) correspondente ou livro didático.

4. Comente cada uma das etapas da Coloração de Gram.

R: Inicialmente precisamos obter um esfregaço bacteriano e fixá-lo ao calor:

|  |  |
| --- | --- |
| preparação da lâmina | - Espalhar em uma lâmina 1 alçada (ou 5 ml) de uma cultura bacteriana,- Deixar secar em temperatura ambiente,- Fixar passando a parte inferior da lâmina sobre a chama do bico de Bunsen, rapidamente, 3 vezes.- Incubar a temperatura ambiente (por uns 3 min) até a temperatura da lâmina retornar a temperatura ambiente. |

Agora, podemos realizar a Coloração de Gram:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Etapa 1**- Cobrir o esfregaço com Violeta e incubar por 1 min.  | A picture containing brush  Description automatically generated | Resultado: Todas as células coram-se em roxo A screenshot of a cell phone  Description automatically generated A screenshot of a cell phone  Description automatically generated |
| **Etapa 2****-** Lavar com um filete de água para remoção do corante Violeta |  |  |
| **Etapa 3**- Cobrir o esfregaço com Lugol e incubar por 1 min.  | A picture containing brush  Description automatically generated | Resultado: Todas as células permanecem coradas em roxo  A screenshot of a cell phone  Description automatically generated A screenshot of a cell phone  Description automatically generated |
| **Etapa 4****-** Descoloração diferencial com álcool. Lavar os esfregaços por 10 seg com etanol. **-** Interromper o efeito do álcool, lavando com filete de água. | A picture containing brush  Description automatically generated | Resultado: As células Gram-positivas permanecem roxas e as células Gram-negativas ficam incolores. A screenshot of a cell phone  Description automatically generated A screenshot of a cell phone  Description automatically generated |
| **Etapa 5**- Cobrir o esfregaço com Fucsina incubar por 30 seg. **- L**avar com filete de água, para remoção do excesso de corantes. | A picture containing brush  Description automatically generated | Resultado: As células Gram-positivas permanecem roxas e as células Gram-negativas se coram em rosa. A screenshot of a cell phone  Description automatically generated A screenshot of a cell phone  Description automatically generated |
| **Etapa 6****-** Secar a lâmina entre folhas de papel de filtro- Observar ao M.O.  |  |  |

**5**. Quais são as informações fornecidas pela “Coloração de Gram”?

R: Permite subdividir as bactérias em:

- Cocos Gram-positivos

- Cocos Gram-negativos

- Bacilos Gram-positivos

- Bacilos Gram-negativos

**6**. Por que a “Coloração de Gram” é importante?

R: A Coloração de Gram permite a visualização da morfologia e da resposta a este método de coloração, o que permite a identificação de grande parte das bactérias patogênicas. Todavia, é importante lembrar que há várias bactérias patogênicas que a Metodologia de Coloração de Gram não pode ser aplicada, como ocorre, por exemplo, em:

- Micobactérias, pois estas contêm uma camada externa muito espessa de lipídeos (chamados ácidos micólicos);

- Bactérias espiraladas, como *Leptospira* e *Treponema*, pois estas são muito fininhas e o máximo aumento oferecido pelo M.O. não permite a visualização. Podemos visualizar estas bactérias empregando M.O. somente após estas bactérias terem sido submetidas a espessamento com íons prata;

- Bactérias muito pequenas, como *Rickettsia* e *Clamídia* (*Chlamydia* *trachomatis*, que causa DST), pois estas bactérias são muito pequenas.

Assim, podemos concluir que a “Coloração de Gram” é muito, muito importante para o diagnóstico das bactérias que causam doenças, pois é a primeira Etapa que precisa ser realizada para a identificação de uma bactéria. Após terem sido subdivididas em pela morfologia e pelo padrão de coloração (Resposta 5 acima) chaves bioquímicas adequadas para cada subtipo são executadas para se chegar a identificação final da bactéria.

Devemos nos lembrar que há outras colorações bacterianas muito importantes, como a Coloração de Ziehl-Neelsen, que permite a identificação dos “Bacilos Álcool-ácido Resistentes” (BAAR) característica de Micobactérias (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*).



***E aí, ...acertou tudo!!***

 ***Parabéns!***